

原 著

# 炎症性皮膚疾患と鑑別を要する 皮膚 T 細胞リンパ腫の免疫組織化学 および分子生物学的解析

昭和大学医学部病理学講座（臨床病理診断学部門）

猿田 祐輔 矢持 淑子 野呂瀬朋子  
九島 巳樹 瀧本 雅文 太田 秀一

昭和大学医学部病理学講座（病理学部門）

本間まゆみ 塩沢 英輔

**要約：**原発性皮膚リンパ腫は、全体の約 85% を T/NK 細胞が占め、そのうち半数以上が菌状  
肉腫（mycosis fungoides; MF）と Sezary 症候群である。近年では、臨床像および細胞の  
形態に加え、細胞表面形質によって機能的に分類し、さらにクロナリティー解析を行うこと  
により以前では診断に至らなかったリンパ腫も診断することが可能になっている。しかし多彩な  
臨床像を呈し長期的な経過をとる症例が多く、初回生検時には炎症性変化であっても 10 数年  
の経過を経てリンパ腫へと移行するものもあり、現在のところそれらを事前に予測する手段は  
確立されていない。今回われわれは、皮膚 T 細胞リンパ腫と臨床的に鑑別を要する炎症性皮  
膚疾患として、局面状類乾癬（parapsoriasis en plaques; PP）を中心に免疫組織化学的にリン  
パ腫への移行を予測しえるか比較検討した。1993～2011 年に昭和大学病院で臨床・病理学的  
に PP と診断された 18 例、MF と診断された 8 例（28 検体）、炎症性皮膚疾患として扁平苔癬  
（lichen planus; LP）14 例を対象とし免疫組織化学的染色を施行、PP と MF についてはさら  
にクロナリティー解析を行い検討した。CD4/CD8 間の解離は PP、MF ではそれぞれ 33%、  
88% に認めたが、LP では全例で認められなかった。また CD7 の減弱についても、PP、MF  
でその傾向が強かった。CCR3 は、PP、MF、LP の全例で陰性だったが、CCR4、CXCR3 は  
LP に比して PP、MF で陽性例が多かった。T 細胞性クロナリティー解析では、PP は全例陰  
性であったが、MF は 50% でモノクローナルな増殖を認めた。以上より、PP は LP に比して  
より MF に近い表面形質の発現が認められ、炎症性皮膚疾患に加え腫瘍性変化の側面も持つ  
ことが示唆された。また経時的に生検された MF 症例の病勢については、クロナリティー解  
析は補助診断として有効なことが確認された。

**キーワード：**原発性皮膚リンパ腫、局面状類乾癬、扁平苔癬、免疫組織化学的染色、ケモカイン

原発性皮膚リンパ腫とは、確定診断時に皮膚以外  
の臓器に腫瘍細胞を認めないものと定義され、節外  
性リンパ腫の中では消化管、鼻咽腔について多いと  
される<sup>1)</sup>。悪性リンパ腫全体では B 細胞腫瘍が多い  
が、原発性皮膚リンパ腫では、全体の約 85% を T/  
NK 細胞が占め、そのうち半数以上が菌状肉腫  
（mycosis fungoides; MF）と Sezary 症候群であ  
る<sup>2)</sup>。MF は紅斑期として発症し数年～数十年以上  
の経過の後に扁平浸潤期となり、さらに腫瘍期へと  
進行する。紅斑期の期間が長く緩徐な進行のため一

般的には低悪性度な疾患とされるが、末期には皮膚  
外浸潤や形質転換を生じ悪性度の高いリンパ腫とな  
るため、より早期での確実な診断が求められる。近  
年では、臨床像・細胞の形態に加え表面形質によ  
って機能的に分類し、クロナリティー解析を行うこと  
により以前では診断に至らなかったものも診断する  
ことが可能になっているが、早期の MF に関して  
は診断がつかない症例も少なくない。

一方、類乾癬（parapsoriasis）とは乾癬に類似し  
た角化性紅斑が慢性に経過する疾患の総称であり、

特に紅斑が大型の局面状類乾癬 (parapsoriasis en plaques; PP) については MF へ移行する前病変的発疹とされるが、炎症性疾患とすべきか MF 紅斑期の 1 病型そのものとするべきかについては現在に至るまで見解の対立がある<sup>3)</sup>。

また、MF の治療の効果判定は容易ではない。その原因として、臨床的には腫瘍マーカー等の存在が確立されていないこと、一般的に治療の第一選択となる光線療法の影響でむしろ皮疹の状態は不明瞭化することなどが挙げられる。組織学的にも真皮上層の密な炎症細胞浸潤が治療にかかわらず長期に残存し、腫瘍細胞が遺残しているか判断が困難な症例も多い。

今回われわれは、皮膚リンパ腫として MF、リンパ腫へ移行しうる炎症性皮膚疾患として PP、リンパ腫へ移行しない炎症性皮膚疾患として扁平苔癬 (lichen planus; LP) の 3 群を免疫組織化学的染色、クロナリティー解析により比較検討し、リンパ腫への移行を予測する所見、および経時的皮膚生検により MF の治療判定になりうる所見として最も有用なものが何かを検討した。

## 研究方法

### 1. 対象

1993 年～2011 年までに昭和大学病院で臨床病理学的に診断された PP 18 例、MF 8 例 (28 検体)、LP 14 例を対象とした。PP は男性 11 例、女性 7 例、発症年齢中央値 69.5 歳で、大局面型を対象とした。MF は男性 5 例、女性 3 例、発症年齢中央値 61 歳、LP は男性 10 例、女性 4 例、発症年齢中央値 59 歳だった。MF の初回生検時の病期は紅斑期 5 例、扁平浸潤期 3 例だった。

### 2. 方法

#### 1) 標本作製

全症例に対し Hematoxylin Eosin (HE) 染色および免疫組織化学的染色を施行した。ホルマリン固定パラフィン包埋された組織切片を脱パラフィン処理し、pH7 または pH9 の条件下の抗原賦活化液 (ニチレイ: 4I5211, 三菱化学メディエンス: RM102-H) でマイクロウェーブ処理 (98℃, 20 分間または 40 分間照射) により抗原賦活を行った。その後、3% 過酸化水素水で 5 分脱ペルオキシダーゼ処理をし、リン酸緩衝液 (PBS) に 5 分間浸漬し

た。一次抗体を 4℃で一晩反応させたのち、PBS 5 分間で 3 回洗浄し、室温で二次抗体 (ダコ ENVISION キット/HRP (DAB) ポリマー試薬, ダコ・ジャパン株式会社, 日本) を 40 分間反応させた。次に PBS 5 分間で 3 回洗浄したのち、DAB (ダコ ENVISION+キット/HRP (DAB) DAB+発色基質キット, ダコ・ジャパン株式会社, 日本) で発色させた。ヘマトキシリンで核染色し、脱水後封入した。抗体は LCA, CD1a, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD20, CD25, CD30, CD44, CD56, CD62L, CD68, Langerin, CCR3, CCR4, CXCR3, GranzymeB, TIA-1, Ki-67 の計 21 抗体を使用した (Table 1)。

#### 2) 病理組織学的評価

病理専門医 1 名を含む 2 名で、浸潤するリンパ球様細胞の抗原発現について 5 段階 (－, 1+, 2+, 3+, 4+) に分類した。抗原を発現している細胞が 10%未満のものを (－), 10%～25% 占めるものを (1+), 25%～50% 占めるものを (2+), 50%～75% 占めるものを (3+), 75% 以上占めるものを (4+) と判定した。(－) を非発現例, (1+), (2+), (3+), (4+) を発現例として評価した。また個々の症例において CD4 と CD8, CD3 と CD7 の上記の発現結果に 2 段階以上の差を認めた場合、解離ないし減弱と判定した。さらに、MF については HE 染色標本において腫瘍細胞の表皮内浸潤を 4 段階 (－, 1+, 2+, 3+) に分類した。腫瘍細胞の表皮内浸潤がないものを (－), 孤在性に浸潤するものを (1+), 集簇して浸潤するものを (2+), 微小膿瘍を形成するものを (3+) とした。

#### 3) クロナリティー解析

浸潤する異型リンパ球の腫瘍性増殖を分子病理学的に確認するため、PP 18 例、MF 8 例 (28 検体) の全例に対して、クロナリティー遺伝子解析を行った。病変のホルマリン固定パラフィン包埋切片から genomic DNA を抽出し、PCR 法によって B 細胞性クロナリティー解析として、免疫グロブリン重鎖 (IgH) 遺伝子再構成を解析し、T 細胞性クロナリティー解析として、T 細胞受容体  $\gamma$  鎖 (TCR $\gamma$ ) 遺伝子再構成を解析した。PCR 産物を 8% アクリルアミドゲルで電気泳動し可視化した。標的領域に 1 本ないし 2 本の明瞭な増幅 band を検出する症例をモノクローナルな増殖あり (陽性) と判定した<sup>4)</sup>。

Table 1 Used antibodies in this study

antibody	animal species	Clone	corporation	epitope retrieval technique	※ 1 solution pH	dilution	remarks
LCA	mouse	2B11 + PD7/26	DAKO	HIER	7	200	
CD1a	mouse	O10	DAKO	HIER	9	100	
CD3	mouse	PS1	Novocastra	HIER	9	100	
CD4	mouse	1F6	Novocastra	HIER	9	80	※ 2
CD5	mouse	4C7	Novocastra	HIER	7	100	
CD7	mouse	LP15	Novocastra	HIER	9	60	
CD8	mouse	1A5	Novocastra	HIER	7	100	
CD20	mouse	L26	DAKO	HIER	7	200	
CD25	mouse	4C9	Novocastra	HIER	7	200	
CD30	mouse	Ber-H2	DAKO	HIER	9	60	
CD44	mouse	DF1485	DAKO	HIER	9	80	
CD56	mouse	CD564	Novocastra	HIER	9	100	
CD62L	mouse	9H6	Novocastra	HIER	9	100	
CD68	mouse	KP-1	DAKO	P	—	200	
Langerin	mouse	12D6	Novocastra	HIER	7	200	
CCR3	Rabbit	Y31	EPITOMICS	HIER	7	200	
CCR4	Rabbit	poly	LifeSpan	HIER	7	1000	
CXCR3	Rabbit	poly	Genway	HIER	7	200	
Granzyme B	mouse	11F1	Novocastra	HIER	9	100	
TIA-1	mouse	2G9A10F5	BECKMAN COULTER	HIER	9	1000	
Ki-67	mouse	MIB-1	DAKO	HIER	7	200	

※ 1 P: Enzyme digestion (Proteinase K). incubate at room temperature for 5minute.

HIER: Heat induced epitope retrieval. incubate at 98°C for 40 minute.

※ 2 Endogeneous peroxidase was not blocked with 3% H2O2.

#### 4) 個別症例における症例解析

MF 8 症例のうち、経過を追えた 6 症例について経時的な解析を行った。今回の検討では、①腫瘍細胞の表皮内浸潤、② CD3 に対する CD7 の減弱、③ CD4 と CD8 の解離、④モノクロナリティー増殖の有無の 4 項目について上記の評価方法を用いて解析し、臨床所見の推移と併せて検討した。

### 結 果

#### 1) 免疫組織化学的評価

PP, MF 症例の典型症例の臨床所見, HE 染色および免疫組織化学的染色による組織所見をそれぞれ例示する (Fig. 1, 2).

PP, MF および LP 症例の全例において、リンパ球様細胞での CD3 および CD5 の発現は陽性だった (Table 2). CD20 は PP 症例では 6%のみ陽性, MF 症例では全例が陰性だったが, LP 症例では 71%が陽性だった。個々の症例においての CD4/CD8 間の

解離では、PP 症例では 33%, MF 症例では 88%に解離を認めたが、LP 症例では全例で解離を認めなかった。CD3 に対する CD7 の発現変化の検討では、PP 症例では 33%, MF 症例では 57%で減弱を認めたが、LP 症例では全例で変化を認めなかった (Table 3). CD25 は 3 疾患いずれも高い陽性率を認めた。CD30 は 3 疾患の全例で陰性だった。CD56 は 3 疾患いずれも低い陽性率だった。CD62L は PP 症例では 28%, MF 症例では 29%陽性にとどまったが、LP 症例では 57%が陽性だった。CCR3 は 3 疾患の全例で陰性だった。CCR4 は PP 症例では 78%, MF 症例では 43%, LP 症例では 43%で陽性だった。CXCR3 は PP 症例では 83%, MF 症例では 71%と高い陽性率を認めたが、LP 症例では 7%で陽性だった。Ki-67 は 3 疾患いずれも 20%までの低い陽性率だった。CD1a, CD25, CD44, CD68, Langerin, GranzymeB, TIA-1 の発現頻度に明らかな差は認められなかった。

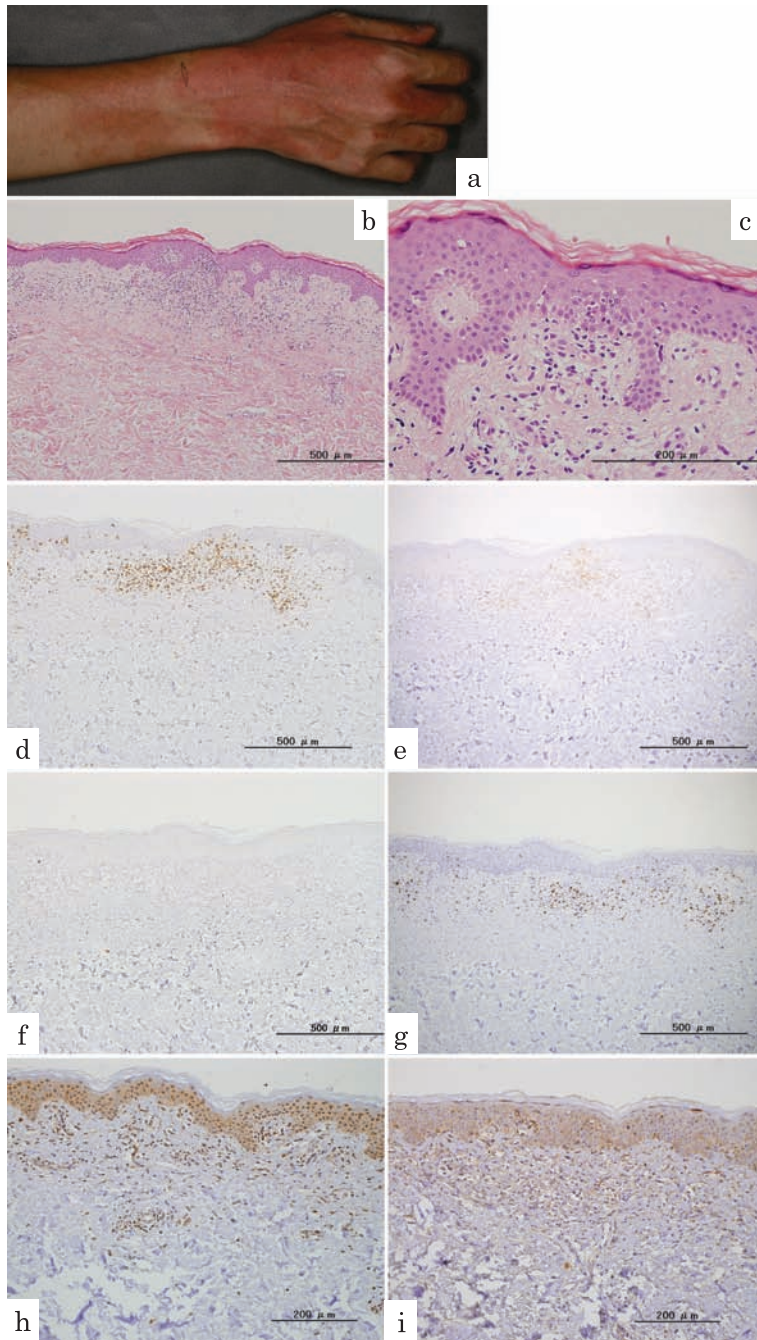


Fig. 1 Clinical and histological findings of parapsoriasis en plaques (PP)  
a: Clinical findings  
b ~ i: Histological findings  
(b, c: HE, d: CD3, 4+, e: CD4, 4+, f: CD7, 2+, g: CD8, 2+, h: CCR4, 3+,  
i: CXCR3, 3+)  
Lymphoid cells were strongly positive for CD3 and CD4 positive for CD7, CD8,  
CCR4 and CXCR3.



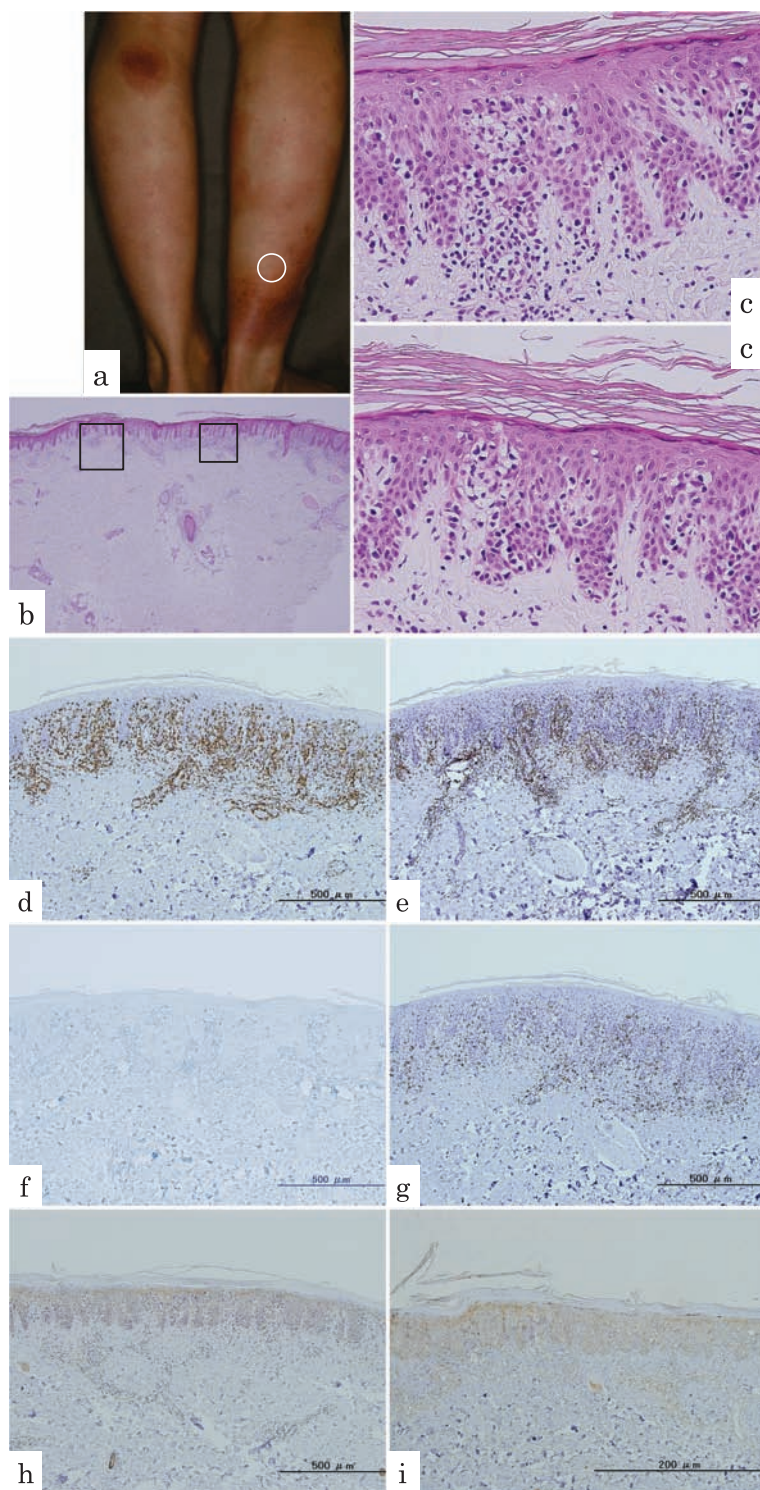


Fig. 2 Clinical and histological findings of mycosis fungoides (MF)

a: Clinical findings b ~ i: Histological findings

(b, c: HE, d: CD3, 4+, e: CD4, 4+, f: CD7, 1+, g: CD8, -, h: CCR4, 1+, i: CXCR3, 2+)

Lymphoid cells were strongly positive for CD3 and CD4 positive for CD7, CCR4 and CXCR3.

Table 2 Immunophenotypic features in MF, PP and LP

Antigen	MF	PP	LP
CD1a	0/7(0%)	8/18(44%)	0/14(0%)
CD3	8/8(100%)	18/18(100%)	14/14(100%)
CD4	5/8(63%)	18/18(100%)	14/14(100%)
CD5	7/7(100%)	18/18(100%)	14/14(100%)
CD7	7/7(100%)	18/18(100%)	14/14(100%)
CD8	7/8(88%)	18/18(100%)	14/14(100%)
CD20(L26)	0/8(0%)	1/18(6%)	10/14(71%)
CD25	7/8(88%)	15/18(83%)	13/14(93%)
CD30	0/8(0%)	0/12(0%)	0/14(0%)
CD44	6/7(86%)	18/18(100%)	8/14(57%)
CD56	2/8(25%)	4/18(22%)	2/14(14%)
CD62L	2/7(29%)	5/18(28%)	8/14(57%)
CD68	0/8(0%)	1/18(6%)	0/14(0%)
langerin	0/7(0%)	1/18(6%)	0/14(0%)
CCR3	0/7(0%)	0/18(0%)	0/14(0%)
CCR4	3/7(43%)	14/18(78%)	6/14(43%)
CXCR3	5/7(71%)	15/18(83%)	1/14(7%)
GranzymeB	2/8(25%)	1/18(6%)	0/14(0%)
TIA-1	5/8(63%)	7/18(39%)	14/14(100%)
PCR	4/8(50%)	0/18(0%)	—

Table 3 Discrepancy of CD3/CD7, CD4/CD8 in MF, PP and LP

Antigen	MF	PP	LP
CD3/CD7	4/7(57%)	6/18(33%)	0/14(0%)
CD4/CD8	7/8(88%)	6/18(33%)	0/14(0%)

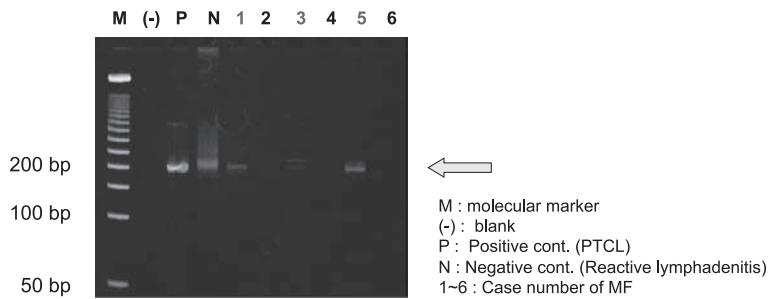


Fig. 3 Detection of a TCR- gamma chain gene rearrangement using a paraffin embedding section.

Case No.1, 3, 5: positive. Case No.2, 4, 6: negative.

## 2) クロナリティー解析

T細胞性クロナリティー解析では、PPは18例全例がモノクローナルな増殖は認められなかったが、MFでは50% (8例中4例) に認められた (Fig. 3)。

## 3) 個別症例の経時的解析 (Table 4)

経時的に生検されたMF8例中6例を対象に、① HE染色上での腫瘍細胞の表皮内浸潤、② CD3に対するCD7の減弱傾向、③ CD4/CD8間の解離、

Table 4 Temporal transition in MF

	生検	CD3	CD7	*1	CD4	CD8	*2	PCR	表皮浸潤	病期／臨床像	治療・経過
症例 1	初回	4+	2+	+	4+	1+	+	-	3+	扁平浸潤期／全身に紅斑，丘疹	発症約5か月，診断後，PUVAを開始したが，末梢血中に異型細胞が出現したため，内服化学療法を併用．その後は，PUVA単独．
	0.3か月後	4+	3+	-	4+	-	+	-	3+	扁平浸潤期／変化なし	
	1.3か月後	4+	4+	-	4+	-	+	-	3+	扁平浸潤期／浸潤触れる紅斑	
	2.7か月後	2+	2+	-	2+	1+	-	-	-	扁平浸潤期／新生なし，浸潤減少	
症例 2	初回	4+	2+	+	-	3+	+	+	2+	紅斑期／軀幹に淡い色素斑，一部で浸潤触れる	発症約13か月，診断後，PUVA導入し，色素斑は軽快傾向．その後転院．
症例 3	初回	4+	3+	-	4+	1+	+	+	2+	扁平浸潤期／軀幹に浸潤触れる紅斑，一部潰瘍形成	発症約10年，診断後，PUVA，n-UVBを施行したが，病期の進行を考慮され電子線併用．その後一時軽快したが，皮膚の悪化を認めたため，現在はn-UVBと電子線を併用し外来通院中．
	1か月後	2+	1+	-	2+	1+	-	-	-	扁平浸潤期／潰瘍上皮化，浸潤（-）	
	44か月後	4+	4+	-	4+	3+	-	-	-	腫瘍期／背部に結節出現，紅斑拡大	
	46か月後	4+	4+	-	4+	1+	+	-	-	腫瘍期／結節縮小，色素沈着	
症例 4	初回	4+	2+	+	4+	-	+	-	2+	扁平浸潤期／両下肢に浸潤触れる暗紅色斑，紫斑	発症約7年，ステロイド外用に反応なし．診断後，n-UVBを開始し，経過良好．外来通院中．
	1.3か月後	4+	1+	+	4+	3+	-	+	2+	扁平浸潤期／左上腕に小結節出現	
	2か月後	4+	1+	+	1+	3+	+	-	2+	扁平浸潤期／色素沈着主体，浸潤（-）	
		4+	1+	-	4+	4+	-	-	1+	紅斑期／左腋窩に小結節，鼠径部に浸潤触れるのみで改善．	
症例 6	初回	4+	2+	+	-	4+	+	-	2+	紅斑期／軀幹・四肢主体に暗紅色斑	発症約25年，診断後，PUVA開始し，病勢に変化なし．現在はステロイド外用とn-UVBを併用．
	37.5か月後	4+	2+	+	-	4+	+	-	2+	紅斑期／小局面の紅斑新生	
	65.5か月後	4+	2+	+	2+	3+	-	-	1+	紅斑期／右下腿に浸潤触れる紅斑新生	
	81.6か月後	4+	3+	-	4+	4+	-	+	1+	紅斑期／変化なし	
	111か月後	2+	2+	-	2+	2+	-	-	-	紅斑期／変化なし	
	152か月後	4+	4+	-	4+	4+	-	-	2+	紅斑期／浸潤触れる暗紅色斑	
症例 7	初回	4+	/	/	-	3+	+	+	1+	紅斑期／両大腿中心に暗紫褐色紅斑，多形皮膚萎縮，浸潤（-）	発症約7年，過去，無治療．診断後，n-UVBを開始し，経過良好．外来通院中．
	1か月後	4+	2+	+	-	2+	+	-	1+	紅斑期／変化なし	
	2か月後	4+	2+	+	-	3+	+	+	1+	紅斑期／やや褐色調に変化	
	22か月後	-	-	-	-	-	-	-	-	紅斑期／変化なし	
	23.3か月後	-	-	-	-	-	-	-	-	紅斑期／変化なし	
症例 8	初回	4+	3+	-	4+	1+	+	+	2+	紅斑期／全身びまん性に暗紅色斑	発症約5年，当初はステロイド外用のみ，診断後，n-UVBを開始したが，経過の生検で反応見られず，PUVA開始し，外来通院中．
	1か月後	4+	1+	+	4+	-	+	+	2+	紅斑期／変化なし	
	2か月後	4+	1+	+	4+	-	+	+	2+	紅斑期／皮膚萎縮あり	
	3か月後	4+	1+	+	4+	1+	+	+	2+	紅斑期／色調が濃く変化	

\*1：CD3に対するCD7の減弱の有無

\*2：CD4/CD8間の解離の有無

④クロナリティー解析について検討した。症例1では、②の改善が最も早く、①と③の改善がほぼ臨床所見の改善と一致していた。症例3では、臨床的には腫瘍期へ移行したと考えられたにもかかわらず、①②④で改善を認め、③のみ残存していた。臨床所見は電子線による結節の縮小を除き、徐々に悪化傾向であり、①～④のいずれも相関していなかった。症例4は①②は不変だが、③は臨床所見の改善より早く解離が消失し、その後逆転した。④では小結節の出現時にモノクローナリティーを認め、消失とともに認めなくなった。症例6は臨床的に小康状態であるが、①は残存している。②は徐々に改善し、③はもともと逆転していたが、治療に伴い double positive を示した。症例7は唯一①が完全に消失したため、②③は判定できず、④は認めなくなった。臨床所見も褐色調の色素沈着が主体となってからはほぼ不変であり、①～④の改善時期と概ね一致していた。症例8は①～④のいずれも残存しており、いまだ強い病勢があると考えられた。

### 考 察

MF は原発性皮膚リンパ腫の中で最も頻度の高い皮膚 T 細胞リンパ腫 (Cutaneous T-cell lymphoma; CTCL) である<sup>2)</sup>。腫瘍細胞のサイトカインの発現パターンは Th2 型であり、 $CD3^+CD4^+CD5^+CD8^-CD30^-$  の免疫発現形質を示すとされる<sup>5)</sup>。特異な臨床像・組織像およびそれらの既知の表面形質から進行期の MF の診断は比較的容易である。しかし腫瘍細胞がリンパ球系細胞を発生母地とするため、腫瘍でありながら炎症性の多彩な細胞浸潤を混在する事や長期の経過中に様々な治療による修飾を受ける事、また元来 MF は臨床病名であるため多様な表面形質パターンやバリエーションを内包する事などから、特に早期の MF では確定診断が困難である。早期の MF の診断基準として、2005 年に International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) が、診断に関するポイント制を提唱している<sup>6)</sup>。これは、①臨床像：(1) 皮疹の性状が持続性または進行性、多様性、多形皮膚萎縮、(2) 皮疹の部位が非露光部、②病理組織像：(1) 真皮上層のリンパ球様細胞浸潤、(2) 海綿状態を伴わない表皮向性、(3) リンパ球の異型性、③遺伝子解析：モノクローナルな T 細胞受容体再構成の証明、④免疫組織化学的染色：

(1) CD2, CD3, CD5 を発現する T 細胞が 50% 未満、(2) CD7 を発現する T 細胞が 10% 未満、(3) CD2, CD3, CD5, CD7 の発現が真皮内の T 細胞で欠落している、の主要 4 項目において合計 4 点以上で MF と診断できるとして、皮膚悪性腫瘍取り扱い規約第 2 版をはじめ、多くの論文で引用されている<sup>2,7,8)</sup>。臨床像、組織像に加え補助的診断として遺伝子解析や免疫組織化学的染色を取り入れ、ポイント制にすることにより診断の根拠を明確にし、再現性を担保する意味で優れた基準と言えるが、あくまで MF と診断するための最低限の基準を定義したものであり、満たさない症例であっても一様に MF を除外できるものではない。実際に使用してみると、臨床像での持続期間や皮疹の多様性に明確な基準が無く、組織像で定義される大型リンパ球様細胞の大きさについても具体的な記載がなく、やや評価の客観性に欠ける。また、免疫組織化学的染色において、汎 T 細胞マーカーの発現が 50% 未満、CD7 の発現が 10% 未満を示すとされるが、実際にはそれほど高率ではないように思われる。遺伝子解析においても、特に PCR 法で炎症性疾患においてモノクローナルな増殖を認める症例が報告されており<sup>9,10)</sup>、基準では 1 ポイントの評価にとどまっている。しかし、逆に炎症性疾患にもかかわらずモノクローナルな増殖を認める症例こそが、MF を発症する可能性が高いことも示唆されており<sup>9)</sup>、1 ポイント以上の価値があると考えられる。河井<sup>11)</sup> は、MF の診断に有用な組織所見として、a) 腫瘍性リンパ球の細胞形態、b) 表皮内浸潤パターン、c) 表皮の変化、d) 真皮内浸潤パターン、e) 真皮乳頭層の変化の 5 項目を挙げ、病理診断の手がかりとして有用性が高いとした上で、単一の所見にとらわれることなく総合的に判断することが重要であると述べている。

PP は MF へ移行する前病変的発疹あるいは早期の MF そのものとする考えがあるが、終生にわたり炎症性の変化のままとどまる例も多くその鑑別は容易でない。2007 年に Guitart により、明らかな CTCL を発症する前の病態を整理した疾患概念として Cutaneous T-cell lymphoid dyscrasia (CTLDD) という概念が提唱された<sup>12)</sup>。これは、①局所治療に抵抗する慢性疾患、②アレルギー疾患や膠原病その他のリンパ増殖性疾患は否定されるが何らかの誘因があること、③ CTCL の組織学的基準を満たさ



ず、浸潤リンパ球も小型ないし中型のものが優位、④原則として単クローン性もしくはオリゴクローン性、⑤CTCLへの移行能力を有しているが、臨床的・形態学的に異なることの5項目を満たすものをCTLDと呼ぶとしている。この疾患概念により、CTCLへ移行する可能性を除外せず慎重に経過観察ができる利点がある一方、色素性紫斑病などのように明らかに臨床像が異なる疾患を統合しなければならないという欠点もあり、いまだ一般的なコンセンサスを得るには至っていない。

一方、LPは皮膚・粘膜における角化異常を伴う慢性炎症性皮膚疾患で、組織学的に表皮・顆粒層の肥厚や真皮上層の密なリンパ球浸潤を特徴とする。浸潤するリンパ球のサイトカインの発現パターンはTh1型であり、ウイルスとの関連や特定のケモカイン発現などの解明が進められている<sup>13)</sup>。LPは炎症性疾患であるが、真皮上層の密なリンパ球浸潤という組織学的にはMFに類似する特徴を持っており、対象として使用した。

先に述べたとおり典型的なMFの腫瘍細胞の形質は、CD4陽性CD8陰性だが、CD4陰性CD8陽性やdouble positive, double negativeを示すこともあるとされるため、CD4/CD8の表面形質だけで診断することはできない。しかし、そもそも腫瘍とは単一の細胞が際限なく増殖するものであり、CD4/CD8間の著明な解離はモノクローナルな増殖をうかがわせる所見として重要と考えられる。われわれの研究でも、MF症例では治療によく反応した1例を除き全例で解離を認めた。また、LP症例では全例解離を認めなかったのに対し、PP症例の33%に解離を認めた。これはCD4/CD8間の解離がMFの診断に有用な所見で、PPの一部が腫瘍性変化をきたしていることが示唆される。

CD7はT細胞の早期の分化段階で出現し、CD4陽性T細胞やCD8陽性T細胞を含む正常T細胞の各成熟段階で広く分布している。成人T細胞性白血病/リンパ腫(adult T-cell leukemia/lymphoma; ATLL)においてはCD7が減弱ないし消失する事が知られている<sup>14)</sup>。その理由として、CD7にGalectin-3が結合することでアポトーシスを引き起こすことが指摘されており、ATLL細胞はCD7の消失によりアポトーシスを回避している可能性が報告されている<sup>15)</sup>。Lindaeら<sup>16)</sup>は、MFにおいても

早期からCD7の表面形質を失うことを報告し、その頻度は炎症性疾患より高かったとしている。また、馬場ら<sup>17)</sup>の報告では、MFの浸潤細胞の90%以上がCD7陰性であったのに対し、良性疾患では15%に過ぎなかったと報告し、さらに臨床病期が進むにつれCD7の減弱傾向がみられた。一方、Murphyら<sup>18)</sup>は、CD7の減弱傾向はspongiotic dermatitisを示す炎症性皮膚疾患でも同程度で確認されるため鑑別として必ずしも有用でないと報告している。また、MFのvariantであるPrimary cutaneous CD8+ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphomaはCD7陽性例が多いことが知られており<sup>19)</sup>、未熟T細胞のマーカーであるCD7陽性例はむしろ未分化であり予後不良につながるという意見もある<sup>20)</sup>。われわれの研究ではMF症例において最も高率にCD7の減弱傾向を確認でき、PP症例においてもLP症例に比して高率に認めたが、上記の理由からも鑑別における特異度が高いとは言えず、あくまで補助診断にとどめるべきと考える。

CD25は、活性化抗原に属し、活性化T細胞、活性化B細胞、活性化単球/マクロファージに発現し、ATLLで高率に陽性となることが報告されているが<sup>22)</sup>、いずれの疾患においてもほぼ同様の陽性率であり明らかな差は認めなかった。CD44、CD56は接着因子でありlymphomaとの関連が指摘されているが、いずれの疾患においてもほぼ同様の陽性率であり明らかな差は認めなかった。

クロナリティー解析を用いたMFの診断は、すでに有用性が指摘されており、前述のISCLの診断基準にも採用されている。過去の報告では、CTCLのTCR $\gamma$ 鎖遺伝子再構成のPCR解析におけるモノクローナリティーの検出感度は59%~100%の範囲であったとされる<sup>21)</sup>。しかしこれらの報告は、使用している検体が凍結切片や新鮮標本であったり、また症例もMFのみでなくSezary症候群やその他のリンパ腫を含めて報告されているため、一概に比較することは難しい。Gutzmerら<sup>21)</sup>は、CTCLのうち凍結切片では62%にモノクローナリティーを認めたのに対し、ホルマリン固定パラフィン包埋切片では38%であったと報告している。志村ら<sup>10)</sup>は、ホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、MFの91%にモノクローナリティーを認めるという高い陽性率を示したが、炎症性疾患でも17%に陽性を認

め、false positiveの可能性について言及している。われわれの研究ではPP症例は全例でモノクローナルな増殖を認めなかったのに対し、MF症例では50%で認めた。これは、過去の報告に比較しても概ね妥当な陽性率と考えられ、モノクローナリティーを認めない例がMFでないとは言えないものの、少なくとも認めた例についてはMFとして扱うべきであり鑑別する上で特異度の高い検査と考えられた。

ケモカインは、8～14kDaと小分子量のサイトカインの一種で、近傍にいる反応細胞に走化性を誘導する。アミノ末端のシステイン残基の配列によって、CC, CXC, C, CX3Cのサブファミリーに分類される。ケモカインレセプターは7回膜貫通型であり、CCR, CXCR, XCR, CXCR3に分類され、共役的G蛋白を介して反応細胞にシグナルを伝え、生理的あるいは炎症時に細胞の遊走・生存に関与するといわれている。機能的に異なるT細胞サブセットには特異的に発現するケモカインレセプターが存在し、MFなどの特定の疾患に特異的に発現するケモカインレセプターを解析することは、病態や起源の解析につながると考えられる<sup>22, 23)</sup>。

CCR3は線維芽細胞が産生するCCL11, CCL26をリガンドとしている。MFの病変部においてCCL11, CCL26の発現が上昇することが知られており、それにより非腫瘍細胞であるCCR3陽性のリンパ球や好酸球の浸潤が促され、Th2優位の環境を形成するとされる。また、CD30陽性リンパ増殖症においてはCCR3陽性の腫瘍細胞が認められることが指摘されている<sup>23)</sup>。われわれの研究ではLP, PP, MF症例のいずれにおいても陰性であった。

CXCR3は表皮角化細胞、ランゲルハンス細胞が産生するCXCL9, CXCL10をリガンドとしており、それらとの相互作用によりCXCR3陽性T細胞の表皮内浸潤を促すと考えられ、腫瘍細胞の表皮向性との関与が指摘されている。逆に、表皮向性を示さなくなるMFの腫瘍期では、腫瘍細胞がCXCR3を発現しなくなると報告されている<sup>23, 24)</sup>。その理由として、CXCR3はTh1細胞が発現する<sup>25)</sup>が、MFは進行に伴いTh2優位の性格を強め、相対的にTh1細胞は減少するためと推察される。われわれの研究では、PP症例、MF症例で高率に陽性例を認めた。これは、今回の症例が紅斑期および扁平浸潤期が大

部分で腫瘍期が少なかったことと合致する。しかし、Th1型であり高率にCXCR3を発現するとされるLP症例では、極端に陽性率が低かった<sup>13)</sup>。これは、本研究で用いたLP症例のほとんどが、ステロイド外用治療をすでに行っていたことなどが関係している可能性が示唆される。いずれにせよ、この結果からのみではCXCR3が鑑別に有用とは言えないものの、MFとPPにおいて陽性率が高かったことは、PPもMF同様リンパ球様細胞の表皮向性を有していると考えられた。

CCR4は活性化ケラチノサイト、樹状細胞、内皮細胞が産生するCCL17(別名 thymus and activation-regulated chemokine; TARC)をリガンドとしており、MF患者の血清レベルにおいても増加することが知られている。また、ATLLで高率に発現することが知られており、特にATLLの皮膚浸潤例で有意に陽性が多いことから表皮向性との関連が指摘されている<sup>22, 23)</sup>。皮膚浸潤および表皮向性のメカニズムとしては、腫瘍細胞がCCL17などにより血管の内腔側にとらえられ、内皮細胞を通して遊出、皮膚に存在するケラチノサイトと免疫細胞の産生するケモカイン勾配に沿って皮膚に移動すると考えられている<sup>8)</sup>。また、MFの腫瘍期になるとCXCR3とは逆に、CCR4が主体になってくる<sup>23, 24)</sup>。われわれの研究では、各疾患間での明らかな差を認めなかった。CCR4はTh2細胞が発現するため、Th1細胞が主体とされるLPにおいて陽性率が高くないことは矛盾しない。また、本研究のMF症例は腫瘍期が少ないため、CXCR3の陽性率がCCR4の陽性率より高いことは、これを支持する。PPにおいては比較的高率にCCR4陽性を認めたが、これがいかなる意味を持つのかさらなる検討が望まれる。

一方、治療中や進行期のMFでは、必ずしも臨床的な皮膚所見が病勢を反映しない。また、組織学的にHE染色所見上でも炎症性の細胞浸潤が強く治療の効果判定に難渋することが少なくない。MF症例の全例で腫瘍細胞の表皮内浸潤を認め表皮向性を確認できたが、Pautrier微小膿瘍は1例のみ認めた。治療により6例中3例で腫瘍細胞の表皮内浸潤は消失し、そのうち1例では真皮内の腫瘍細胞浸潤も完全に消失した。診断時には1例を除き全例でCD4/CD8間に解離を認めたが、6例中5例で治療により

解離を認めなくなった。また、診断時には7例中4例でCD3に対するCD7の減弱傾向を認めたが、治療によりその4例全例で減弱を認めなくなった。クロナリティー解析では、経過中モノクローナルな増殖を認めた5例中4例で、治療により認めなくなった。以上より、結果で述べた4項目の中ではCD4/CD8間の解離が、MFの経過をみる上で最も臨床所見を反映し重要視されるべきものと考えられた。また、4項目すべてにおいて改善が認められた場合は、治癒とできる可能性が示唆された。今後のさらなる検討で、これらの項目にケモカインなども追加し、MFの治療効果を臨床所見以外にも確立する事が望まれる。

今回の研究結果では、PPはLPに比してMFと同様の結果を示すことが多くやはり同一スペクトル上の疾患と考えられたが、明らかな腫瘍性変化は確認できなかった。臨床像でPPが疑われた時は、積極的に免疫組織化学的染色を追加することが有用と考えられ、また、詳細な経過観察が必要と思われる。今後さらに症例数を増やし検討することが望ましい。

## 文 献

- 1) World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Ed by Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, *et al*), 4th ed, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 2008.
- 2) WHO 分類第4版に基づくリンパ腫病型の疫学、皮膚悪性腫瘍取り扱い規約 (日本皮膚悪性腫瘍学会), 2版, p. 112, 金原出版, 東京, 2010.
- 3) 武藤正彦: 類乾癬. 日皮会誌 121: 851-855, 2011.
- 4) 塩沢英輔, 矢持忠徳, 塩沢朋子, ほか: パラフィン包埋切片を用いた非ホジキン悪性リンパ腫モノクロナリティー解析の有用性に関する検討. 臨病理 55: 712-720, 2007.
- 5) 橋本 健: 皮膚病理のみかた 皮膚リンパ腫 (1). 皮の科 8: 741-770, 2009.
- 6) Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, *et al*: Defining early mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 53: 1053-1063, 2005.
- 7) 八木宏明, 瀧川雅浩: 最近の悪性リンパ腫の分類とその概念. 日皮会誌 118: 3045-3050, 2008.
- 8) 瀬戸山充: 皮膚悪性リンパ腫, 特に菌状息肉症について. 日皮会誌 118: 3051-3057, 2008.
- 9) Simon M, Flaig MJ, Kind P, *et al*: Large plaque parapsoriasis: clinical and genotypic correlations. *J Cutan Pathol* 27: 57-60, 2000.
- 10) 志村英樹, 河井一浩, 皆川正弘, ほか: TCR $\gamma$ 遺伝子再構成のPCR-heteroduplex解析による菌状息肉症の診断. 皮リリンフォーマ XXI: 138-140, 2002.
- 11) 河井一浩: 悪性リンパ腫の病理像 診断と鑑別診断. 日皮会誌 120: 2367-2378, 2010.
- 12) Guitart J and Magro C: Cutaneous T-cell lymphoid dyscrasia: a unifying term for idiopathic chronic dermatoses with persistent T-cell clones. *Arch Dermatol* 143: 921-932, 2007.
- 13) 鳥居秀嗣: その他の炎症性角化症 (毛孔性紅色枇糠疹, ジベルばら色枇糠疹, 扁平苔癬). 日皮会誌 119: 881-886, 2009.
- 14) Dahmouch L, Hijazi Y, Barnes E, *et al*: Adult T-cell leukemia/lymphoma: a cytopathologic, immunocytochemical, and flow cytometric study. *Cancer* 96: 110-116, 2002.
- 15) Liu TY, Chen CY, Tien HF, *et al*: Loss of CD7, independent of galectin-3 expression, implies a worse prognosis in adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Histopathol* 54: 214-220, 2009.
- 16) Lindae ML, Abel EA, Hoppe RT, *et al*: Poikilodermatous mycosis fungoides and atrophic large-plaque parapsoriasis exhibit similar abnormalities of T-cell antigen expression. *Arch Dermatol* 124: 366-372, 1988.
- 17) 馬場直子, 金 秀沢, 宮本秀明, ほか: 皮膚リンフォーマ免疫形質の多様性. 日網内系会誌 31: 275-281, 1991.
- 18) Murphy M, Fullen D and Carlson JA: Low CD7 expression in benign and malignant cutaneous lymphocytic infiltrates: experience with an antibody reactive with paraffin-embedded tissue. *Am J Dermatopathol* 24: 6-16, 2002.
- 19) 八木宏明: Primary cutaneous aggressive epidermotropic CD8<sup>+</sup> T-cell lymphoma. 新・皮膚悪性リンパ腫アトラス, pp. 76-77, 文光堂, 東京, 2006.
- 20) 青木啓真, 永岡徹也, 谷内克成, ほか: CD8陽性菌状息肉症の1例. 皮膚臨床 44: 1471-1475, 2002.
- 21) Gutzmer R, Mommert S, Kiehl P, *et al*: Detection of clonal T cell receptor  $\gamma$  gene rearrangements in cutaneous T cell lymphoma by Light-Cycler-polymerase chain reaction. *J Invest Dermatol* 116: 926-932, 2001.
- 22) 島内隆寿, 戸倉新樹: ケモカインからみたリンパ腫. 臨皮 60: 56-60, 2006.
- 23) 菅谷 誠: 皮膚のリンパ腫とケモカイン. 日臨免疫会誌 34: 91-98, 2011.
- 24) Yagi H: Chemokine receptor expression in cutaneous T cell and NK/T-cell lymphomas: immunohistochemical staining and in vitro chemo-

tactic assay. *Am J Surg Pathol* 30 : 1111-1119,  
2006.

T細胞リンパ腫の再分類. 血腫瘍 49 : 236-  
239, 2004.

25) 大島孝一：ケモカイン受容体発現に基づく末梢



# IMMUNOHISTOLOGIC AND MOLECULAR ANALYSIS OF PRIMARY CUTANEOUS T-CELL LYMPHOMA AND INFLAMMATORY DERMATOSIS

Yusuke SARUTA, Toshiko YAMOCHI, Mayumi HONMA,  
Eisuke SHIOZAWA, Masafumi TAKIMOTO and Hidekazu OTA

Department of Pathology Clinico-diagnostic Pathology,  
Showa University School of Medicine

Tomoko NOROSE and Miki KUSHIMA

Department of Hospital Pathology, Showa University School of Medicine

**Abstract** — T/NK cells are involved in approximately 85% of primary cutaneous lymphomas, and more than half of the cases are mycosis fungoides (MF) and Sezary syndrome. Primary cutaneous lymphoma is classified functionally based on clinical behavior, histology and surface characteristics; the diagnostic rate has improved due to implementation of clonality analysis. We examined the progression to lymphoma in 14 cases that were clinicopathologically diagnosed as lichen planus (LP); 18 as parapsoriasis en plaques (PP), an inflammatory disorder; and 8 (28 samples) as MF in Showa University Hospital from 1993 to 2011. Immunohistochemical staining was performed on all samples, and PP and MF samples were further examined by clonality analysis. Dissociation of CD4/CD8 was not found in any LP samples, but was revealed in 33% of PP and 88% of MF samples. There was a strong tendency for a decrease of CD7 in PP and MF samples. CCR3 was negative in all LP, PP, and MF samples. CCR4 and CXCR3 were positive in many more PP and MF samples, compared with LP samples. All of the PP samples were negative in the T-cell clonality analysis, but 50% of MF samples were positive. These results suggest that the surface properties of PP are closer to those of MF, rather than LP. Therefore, PP may also have the potential for tumorous change, in addition to being an inflammatory skin disease. Moreover, the validity of the clonality analysis in auxiliary diagnosis of MF should be checked further.

**Key words:** primary cutaneous lymphoma, parapsoriasis en plaques, lichen planus, immunohistochemical staining, chemokines

〔受付：1月25日，受理：2月10日，2012〕